

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **PP-COVID-20-0017**

Výskum imunitnej odpovede na infekciu SARS-CoV-2 a vývoj klinicky relevantných virologických testov na zvládnutie dopadov pandémie COVID-19

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Boris Klempa, DrSc.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Bratislava
Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
Fakulta matematiky, fyziky a informatiky Univerzity Komenského v Bratislave

Zoznam spolupracujúcich organizácií zo zahraničia, ktoré sa zapojili do riešenia projektu (uveďte názov, sídlo, štát a identifikačné číslo ak je dostupné)

-

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Janíková M, Hodosy J, Boor P, Klempa B, Celec P. Loop-mediated isothermal amplification for the detection of SARS-CoV-2 in saliva. Microb Biotechnol. 2021 Jan;14(1):307-316. doi: 10.1111/1751-7915.13737.
2. Boršová K, Paul ED, Kováčová V, Radvánszka M, Hajdu R, Čabanová V, Sláviková M, Ličková M, Lukáčiková L, Belák A, Roussier L, Kostíčová M, Lišková A, Maďarová L, Štefkovičová M, Reizigová L, Nováková E, Sabaka P, Koščálová A, Brejová B, Staroňová E, Mišík M, Vinař T, Nosek J, Čekan P, Klempa B. Surveillance of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in Slovakia using a novel, multiplexed RT-qPCR assay. Sci Rep. 2021 Oct 14;11(1):20494. doi: 10.1038/s41598-021-99661-7.
3. Brejová B, Boršová K, Hodorová V, Čabanová V, Reizigová L, Paul ED, Čekan P, Klempa B, Nosek J, Vinař T. A SARS-CoV-2 mutant from B.1.258 lineage with Δ H69/ Δ V70 deletion in the Spike protein circulating in Central Europe in the fall 2020. Virus Genes. 2021 Dec;57(6):556-560. doi: 10.1007/s11262-021-01866-5.
4. Brejová B, Boršová K, Hodorová V, Čabanová V, Gafurov A, Fričová D, Neboháčová M, Vinař T, Klempa B, Nosek J. Nanopore sequencing of SARS-CoV-2: Comparison of short and long PCR-tiling amplicon protocols. PLoS One. 2021 Oct 29;16(10):e0259277. doi: 10.1371/journal.pone.0259277.
5. Boďová K, Kollár R. Spatial scales, patterns, and positivity trends of SARS-CoV-2 pandemics in mass rapid antigen testing in Slovakia. PLoS One. 2021 Aug

25;16(8):e0256669. doi: 10.1371/journal.pone.0256669.

6. Kajanová I, Lukáčiková L, Jelenská L, Grossmannová K, Radiková Z, Vlcek M, Klempa B, Kollar R, Bodová K, Kopacek J, Pastoreková S. Seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies in the staff of the Slovak Academy of Sciences in response to COVID-19 and/or vaccination: situation in August 2021. *Acta Virol.* 2021;65(4):420-432. doi: 10.4149/av_2021_407.

7. Šuster M, Bod'ová K, Nosál V, Kollár R. Determinants of COVID-19 hospitalizations in Slovakia, *Proceedings of 21st Conference Information Technologies-Applications and Theory, ITAT 2021*, 269-274.

8. Bod'ová K, Kollár R. True pandemic state and a lack of capacity of hospitals and mechanical ventilation in Slovakia during the SARS-CoV-2 pandemic wave in August 2020-May 2021, *Proceedings of 21st Conference Information Technologies-Applications and Theory, ITAT 2021*, 247-254.

9. Bod'ová K, Boža V, Brejová B, Kollár R, Mikušová K, Vinař T. Time-adjusted Analysis Shows Weak Associations Between BCG Vaccination Policy and COVID-19 Disease Progression, *Proceedings of 21st Conference Information Technologies-Applications and Theory, ITAT 2021*, 255-262.

Uplatnenie výsledkov projektu

V projekte IMPROVE sa spojili pracoviská, ktoré sa aktívne podieľali na boji Slovenska s pandémiou. Okrem základných vedeckých poznatkov bolo cieľom reagovať na konkrétne potreby klinickej, diagnostickej a epidemiologickej praxe. Práve uplatnenie výsledkov projektu v praxi sa dajú považovať za jeho silnú stránku. Vedecké poznatky boli podkladom pre vznik piatich vedeckých publikácií v impaktovaných vedeckých časopisoch. Napriek krátkemu obdobiu už mali v podobe 16 citácií aj značný vedecký ohlas.

Naše aktivity vyústili do zaradenia odberu pomocou kloktania do „Štandardného postupu pre mikrobiologickú diagnostiku pri suspektnej infekcii vírusom SARS-CoV2 pre laboratória klinickej mikrobiológie“ a zavedenia tejto formy odberu do škôl. V rámci projektu vyvinutá metodika izolačných pokusov bola využitá pri pomoci klinickým pracoviskám formou vykonávania tzv. testov viability. Pravidelné testovanie, izolácie a sekvenovanie klinických vzoriek nám tiež umožnili zapojiť sa do analýzy šírenia nových variantov na území Slovenska.

Uskutočnili sme analýzu protilátkovej imunitnej odpovede na infekciu vírusom SARS-CoV-2 a/alebo vakcináciu voči ochoreniu COVID-19. Prierezovú séroprevalenčnú štúdiu IgG protilátok proti SARS-CoV-2 sme realizovali na vzorkách získaných od zamestnancov Slovenskej akadémie vied v období pred nástupom druhej vlny pandémie na Slovensku. Zistenia tejto štúdie boli podkladom pre rozhodnutia manažmentu vedeckých pracovísk počas ďalšieho vývoja pandémie, s rešpektovaním fenoménu časovo závislého oslabenia imunity a súčasného šírenia nákazlivejšieho Delta variantu SARS-CoV-2. Táto štúdia zároveň slúžila ako pilotná štúdia, ktorej vypracovaná metodika a logistika boli následne využité aj v celoslovenskej séroprevalenčnej štúdii neočkovaných účastníkov realizovanej v gescii Ministerstva zdravotníctva. Významnou oblasťou bolo aj využitie slín pre diagnostiku vírusu s pomocou LAMP testu a pre detekciu salivárnych IgA protilátok ako nepriameho indikátora ochrany pred infekciou a infekčnosťou. Dostupnosť klinických vzoriek a metodické zázemie, ktoré vznikli vďaka tomuto projektu, spolu s rutinným testovaním a rutinným sekvenovaním pre potreby štátu taktiež umožnili klinické validácie nových diagnostických kitov využívaných na Slovensku. Celkovo sa naše aktivity vykonávané v rámci projektu uplatnili v mnohých aspektoch zvládania pandémie na Slovensku, od rutinného testovania vzoriek, cez sledovanie výskytu a šírenia nových variantov vírusu prostredníctvom rutinného sekvenovania klinických vzoriek, rozsiahle sérologické štúdie napomáhajúce získať predstavu o aktuálnej séroepidemiologickej situácii v jednotlivých regiónoch Slovenska, až po priamu pomoc klinickým pracoviskám prostredníctvom testov infekčnosti.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Pandémia COVID-19 priniesla nielen Slovensku množstvo mimoriadne náročných situácií bezprecedentným spôsobom zaťažujúcich verejné zdravotníctvo. Cieľom projektu bolo zmierniť negatívne dopady pandémie prehĺbením poznatkov o imunitnej odpovedi na

infekciu vírusom SARS-CoV-2 a zavedením efektívnych diagnostických prístupov, ktoré umožnia zlepšiť manažment pacientov a kontrolu nad šírením infekcie. Merateľné ukazovatele projektu boli splnené nad rámec očakávaní. Získané výsledky boli prezentované v 5 publikáciách v impaktovaných vedeckých časopisoch. Očakávané výstupy projektu boli naplnené aj v ostatných dôležitých aspektoch projektu, akými bola vedecká výchova študentov, aplikácia výsledkov v praxi, či popularizačné aktivity. V oblasti diagnostiky sme dosiahli niekoľko významných výsledkov. Na základe našich štúdií sa odber klinického materiálu pomocou kloktania stal súčasťou štandardného postupu pre diagnostiku SARS-CoV-2. Systematické testovanie, izolačné pokusy a sekvenovanie klinických vzoriek nám umožnili zapojiť sa do vývoja a validácie inovatívnych diagnostických testov a tieto následne aj využiť pri analýze šírenia nových variantov na území Slovenska. Takto sme popísali postupné šírenie alfa variantu vírusu na Slovensku, ako aj výskyt vývinovej línie B.1.258, ktorá prispela k zhoršovaniu epidemiologickej situácie na Slovensku na jeseň roku 2020. Významnou oblasťou bolo aj využitie slín pre diagnostiku vírusu s pomocou LAMP testu a pre detekciu salivárnych IgA protilátok ako nepriameho indikátora ochrany pred infekciou a infekčnosťou. Jedným z hlavných cieľov projektu cieľom projektu bolo objasniť dynamiku a charakter imunitnej odpovede na infekciu SARS-CoV-2. Prierezová séroprevalenčná štúdia IgG protilátok proti SARS-CoV-2 realizovaná na vzorkách 1928 zamestnancov Slovenskej akadémie vied v období pred nástupom druhej vlny pandémie na Slovensku viedla k zisteniam: (1) vakcíny na báze mRNA vyvolávajú lepšiu protilátkovú odpoveď v porovnaní s vakcínami proti adenovírusom, (2) hladiny protilátok odrážajú závažnosť COVID-19 symptómov, (3) po očkovaní proti COVID dochádza k výraznému zvýšeniu hladín IgG najmä v asymptomatických a miernych prípadoch, (4) hladiny protilátok klesajú s pribúdajúcim časom, ktorý uplynie od očkovania alebo COVID-19. Dlhodobá analýza hladín protilátok potvrdila, že hladina protilátok v sére je významne indukovaná vakcináciou aj u osôb, ktoré prekonali ochorenie COVID-19 so stredným až závažným priebehom a že druhá dávka očkovacej látky je dôležitá pre dlhodobé udržanie protilátok. V oblasti T bunkovej imunity sme analyzovali možnosť využitia plnej krvi a RT-qPCR metódy špecificky navrhutej na detekciu chemokínov CXCL10 a CXCL9 ako biomarkerov jej aktivity. Celkovo sa naše aktivity uplatnili v mnohých aspektoch zvládania pandémie na Slovensku, od rutinného testovania vzoriek, cez sledovanie výskytu a šírenia nových variantov vírusu, priamu pomoc klinickým pracoviskám prostredníctvom testov infekčnosti, až po rozsiahle séroprevalenčné štúdie napomáhajúce získať predstavu o aktuálnej epidemiologickej situácii v jednotlivých regiónoch Slovenska.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

COVID-19 pandemic represents an unprecedented burden for public health systems worldwide including Slovakia. The goal of the project was to deduce the negative impact of the pandemic through the improvement of our understanding of SARS-CoV-2 immune response and the development of effective diagnostic approaches to improving patient management and infection control.

Measurable outcomes of the project exceeded the declared goals. Obtained results were the basis for 5 publications in recognized scientific journals. Expected outcomes were exceeded also in other important aspects of the project such as research training of students, application of the results in clinical and epidemiological practice, or popularization activities.

Several important results were obtained in the field of diagnostics. Our clinical studies were the basis for the inclusion of gargling as an alternative sampling mode into the standard operational procedure for SARS-CoV-2 diagnostics in Slovakia. Systematic testing, isolation experiments, and sequencing of clinical samples allowed us to contribute to the development and clinical validation of innovative diagnostic tests. These were then used to describe the spread of new SARS-CoV-2 variants spread in Slovakia including the alpha variant of the B.1.258 lineage which was responsible for the abrupt worsening of the epidemiological situation in Slovakia in the fall of 2020. An important aspect of the project was also the evaluation of saliva for virus diagnostics in combination with LAMP methodology and for detection of salivary IgA antibodies as an indirect indicator of infection and infectivity protection.

One of the main objectives of the project was to improve our understanding of the immune response to SARS-CoV-2 infection. Cross-section seroprevalence study performed on 1928 Slovak Academy of Sciences employers in the period before the onset of the second pandemic wave revealed that (1) mRNA vaccines produce higher antibody response than the adenovirus-based vector vaccines, (2) antibody levels reflect the clinical course in COVID-19 patients, (3) vaccination significantly improves antibody levels in patients with asymptomatic or mild clinical course, (4) antibody levels decrease with increasing time since vaccination or infection. Long-term analyses confirmed that antibody levels are significantly increased by vaccination also in the patients with moderate and severe disease and that the second vaccine dose is crucial for the improvement of antibody level longevity. In the field of T-cell immunity, we evaluated the usability of whole blood samples and CXCL10 and CXCL9 chemokine-specific RT-qPCR assays as putative markers of T-cell immunity activation.

Altogether, our activities performed within the project proved to be highly useful in several aspects of the pandemic management in Slovakia including routine SARS-CoV-2 testing, sequencing, infectivity testing for the needs of clinical facilities, and extensive seroprevalence studies helping to estimate the actual epidemiological situations in specific regions of Slovakia.